



دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
دانشکده پزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

فراوانی و ژنوتایپینگ ویروس HPV در نمونه‌های بیوپسی دهانه رحم بیماران پیش  
سرطانی و سرطانی استان قزوین با روش Real Time PCR

اساتید راهنما

دکتر معصومه اصلانی مهر

دکتر تقی ناصرپور

اساتید مشاور

دکتر فاطمه سمیعی راد

دکتر حسن جهانی هاشمی

نگارش

شبیم نعمتی

آبان ۱۳۹۶

## چکیده

پیش زمینه: سرطان دهانه رحم دومین سرطان شایع در زنان، به ویژه زنان کشورهای در حال توسعه و همچنین یکی از علل اصلی مرگ و میر در زنان سراسر جهان می باشد. با توجه به شیوع بالا و تفاوت در توزیع جغرافیایی پاپیلوما ویروس انسانی (HPV) و ارتباط نزدیک آن با سرطان دهانه رحم، هدف این مطالعه شناسایی و ژنوتایپینگ HPV های پرخطر در بلوک های بیماران با ضایعات سرطانی و پیش سرطانی با روش Real Time PCR می باشد.

روش کار: در مطالعه ی توصیفی-مقطعی حاضر بر روی ۱۱۱ بلوک پارافینه و فرمالینه غیرتکراری با میانگین سنی ۴۶ سال در طول سال های ۷۸ تا ۹۴ از دپارتمان پاتولوژی بیمارستان های استان قزوین جمع آوری شده است. با استفاده از پرایمرهای ژن بتاگلوبین و نانودراپ کنترل استخراج صورت گرفته و ۱۰۳ نمونه باقی ماندند، برای شناسایی اولیه ی ژنوم HPV، ابتدا DNA از مقاطع بافتی استخراج شده و سپس نمونه ها با استفاده از دو نوع پرایمر general با روش Real Time PCR بررسی شدند. همچنین ژنوتایپینگ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تیپ های ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳، ۴۵ و ۵۲ و با روش Real Time PCR انجام گرفت.

نتایج: ژنوم HPV در ۹۵ عدد (۹۲/۲۳٪) از ۱۰۳ نمونه شناسایی شد. براساس اطلاعات ژنوتایپینگ، فراوانی کلی ژنوتایپ ها به این صورت است: ۶۴ عدد (۶۷/۳۶٪) از بلوک ها به HPV16، ۴۷ عدد (۴۹/۴۷٪) به HPV45، ۳۹ عدد (۴۱/۰۵٪) به HPV33، ۳۰ عدد (۳۱/۵۷٪) به HPV31، ۲۲ عدد (۲۳/۱۵٪) به HPV52

و ۳ عدد (۳/۱۵٪) به HPV18 آلوده بودند. ۱۳/۶۸٪ از بلوک ها دارای Single HPV Infection و ۷۷/۸۹٪

از آن ها دارای Multiple HPV Infection با دو الی پنج ژنوتایپ گزارش شدند. ۱۰۰٪ نمونه های دارای

تشخیص سرطان و پیش سرطان بدخیم و ۸۴/۳۱٪ از نمونه های خوش خیم آلوده به HPV بودند.

نتیجه: آنالیزهای مطالعه ی حاضر، شیوع بالای HPV16 و سایر تایپ های پرخطر HPV مثل ۴۵، ۳۳ و ۳۱

را در بدخیمی ها و اختلالات دهانه رحم نشان می دهد. شیوع پائین HPV18 هم قابل توج می باشد. با

توجه به داده های این مطالعه و شیوع نسبتا بالای ژنوتایپ های غیر از ۱۶ و ۱۸ در نمونه های سرطانی و

پیش سرطانی، بازنگری در برنامه های کنترل و پیشگیری توصیه می شود.

## **Abstract**

**Background:** Cervical cancer is the second most incident cancer in women especially in developing countries and also one of the main leading cause of women's death worldwide. Considering the high incidence and geographical distribution of human papillomaviruses and closely correlation with cervical cancer, identification and genotyping of high-risk human papillomaviruses in precancerous and cancerous patients by real-time PCR is the aim of this study.

**Methods:** Totally, non-duplicated 1 paraffin fixed cervical biopsy samples during 1999-2015 were obtained from pathology department of kosar gynecology hospital in Qazvin province, Iran. For primary detection of HPV genome, first, DNA of biopsies were extracted, then samples subjected to Real time PCR by using one type of specific primer. Also, for genotyping assay, Real time PCR with type specific primers for HPV16, 18, 31, 33,45 and 52.

**Result:** HPV genome were detected in 92.23% (n: 95) of 103 samples. According to HPV genotyping data, generally, 67.36% (n: 64 from 95) of samples were infected by HPV16, 49.47% (n: 47 from 95) were infected by HPV45, 41.05% (n: 39 from 95) infected by HPV33, 31.57% (n: 30 from 95) infected by HPV31, 23.15% (n: 22 from 95) were infected by HPV52 , 3.15 % (n: 3 from 95) infected by HPV18. Generally, 17.89% and 77.89% of samples off samples were reported as

**Single and multiple HPV infections respectively. 100% of cervical cancer, HSIL, LSIL and 84.31% of benign lesions were HPV-positive.**

**Conclusion: Our analysis revealed high incidences of HPV16 and other high risk types among cervical disorders and malignancy. high incidence of HPV16 in all types of lesions is considerable. Our data are suggesting the vaccine programs and prevention strategies should be develop and improved.**



Qazvin University of Medical Sciences

Faculty of Medicine

Medical microbiology and immunology department

Thesis submitted for

Master of Science degree in medical microbiology

**Title:**

**Genotyping of human papillomaviruses (HPVs) from cervical biopsy specimens by real-time PCR in Qazvin province**

Supervisor:

Dr.M.Aslanimehr

Advisor:

Dr.F.Samieai rad

Dr.H.Jahani Hashemi

Written by:

Shabnam Nemati

Year of graduation: September 2017

Registration number: 92